

粘虫和棉大卷叶螟幼虫体内肺结构的存在与功能验证

李怡萍¹, 刘惠霞^{1,*}, 袁 锋¹, 黄晓锋², 袁向群¹

(1. 西北农林科技大学植物保护学院, 西北农林科技大学应用昆虫学重点实验室,
教育部植保资源与害虫防治重点实验室, 陕西杨凌 712100; 2. 第四军医大学基础部电镜实验中心, 西安 710033)

摘要: 加拿大昆虫学家 Locke 提出鳞翅目幼虫体内有一个适应血细胞进行气体交换的肺结构。本文以 Locke 的研究为依据, 运用电镜及其他化学方法, 观察和研究了粘虫 *Leucania separata* 及棉大卷叶螟 *Sylepta derogata* 幼虫的肺结构和功能。结果表明: 肺存在于第 8 腹节的气管处, 该气管分支细短而丰富, 形成气管簇。亚甲基蓝标记血液发现, 血流方向为由前向侧后方向, 流经第 8 腹节和臀腔, 最后流回心脏。第 8 腹节气管簇的管壁比其他各节都薄, 且管壁内膜具有更多适合运动的细管, 这有利于气体的通透。正常情况下, 气管簇处有各种各样的血细胞聚集, 当缺氧胁迫时有大量的血细胞从组织中释放, 通过变形而紧贴气管簇, 以利于气体的交换。这些特征都与高等动物的肺功能相似, 因而判断此结构存在肺的功能。

关键词: 粘虫; 棉大卷叶螟; 呼吸; 肺; 气管簇; 血细胞; 超微结构

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2009)12-1298-09

Existence of lungs in caterpillars of *Leucania separata* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Sylepta derogata* (Lepidoptera: Pyralidae) and confirmation of their functions

LI Yi-Ping¹, LIU Hui-Xia^{1,*}, YUAN Feng¹, HUANG Xiao-Feng², YUAN Xiang-Qun¹ (1. Key Laboratory of Applied Entomology, Northwest A&F University, Key Laboratory of Plant Protection Resources and Pest Management, Ministry of Education, College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Center of Electron Microscope, Faculty of Preclinical Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China)

Abstract: Locke, a Canadian entomologist, recently suggested that caterpillars have evolved lungs for hemocyte gas exchange. Based on his research, the structure and function of lungs in larvae of *Leucania separata* and *Sylepta derogata* were studied by means of electron microscope and other chemical methods. The results indicated that lungs are located at the trachea of the 8th abdominal segment. Their trachea branches are taper, short and abundant, forming tracheal tufts. Through labelling hemolymph with methylene blue, we observed that the hemolymph moves backwards laterally and ventrally to flow through the 8th abdominal segment and tokus, and finally into the heart. The tracheal tufts of the 8th abdominal segment have thinner cuticle than those of the other abdominal segments, and the cuticular intima of tracheal tufts have more tubules appropriate for them to move, which are in favour of the permeation of gas. Normally these tracheal tufts have all kinds of hemocytes, which are abundant in the tufts. A large number of hemocytes released from tissues attach to the tufts by changing their structure when anoxic stress happens, which is favorable to the exchange of gas. These characteristics are similar to lungs of other higher animals, so it is concluded that this structure has the function of lung.

Key words: *Leucania separata*; *Sylepta derogata*; respiration; lungs; tracheal tufts; hemocytes; ultrastructure

基金项目: 西北农林科技大学青年基金资助项目(05ZR080)

作者简介: 李怡萍, 女, 1972 年生, 陕西武功人, 硕士研究生, 主要从事昆虫生理生化研究, Tel.: 029-87092263; E-mail: liyiping@nwsuaf.edu.cn

* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 029-87092555; E-mail: huixialiu@nwsuaf.edu.cn

收稿日期 Received: 2009-04-15; 接受日期 Accepted: 2009-10-27

肺是脊椎动物中较高等的动物所具有的呼吸器官,是气体交换的部位,呼吸道中的支气管进入肺后,逐渐分支成为次级支气管,三级支气管,四级支气管及微气管。微气管的末端膨大成囊状,称肺泡囊,囊内有隔壁分成许多小室,每个小室称肺泡,吸入的空气在肺泡处与微血管内血液进行气体交换,这个过程主要通过血细胞进行(陈守良,1996)。

昆虫属无脊椎动物中的节肢动物,经典的昆虫生理学理论认为,一般情况下,昆虫没有肺的结构,几乎所有昆虫都由气管组成的呼吸系统进行气体交换。气管在昆虫体内逐级分支形成完整的网络,并以微气管终止于组织器官的表面,直接将氧气输送到组织细胞,并通过气门的开闭调节,使气管内气体交换能有序进行(Wigglesworth, 1972, 1984, 1990; Gillott, 1995; Miller, 1974; 王荫长, 2004)。

近年来,国际上有关昆虫呼吸的新理论不断涌现。如 Hetz 等(1999)和 Wasserehal(1996)指出尽管大多数昆虫种类没有运输氧的血细胞,但循环和呼吸具有一定的相互作用,且在特殊情况下,血液运输气体在呼吸中起重要作用; Locke(1998)提出鳞翅目幼虫具有适应血细胞进行气体交换的肺(lungs); Westneat 等(2003)研究提出甲虫、蟋蟀、蚂蚁、蝴蝶、蟑螂、蜻蜓以及其他昆虫的头部到胸部的气管收缩机制类似于人类肺的换气机制; Flynn 和 Bush(2008)研究水生昆虫如一些蝾螈类,其气泡呼吸的机制也是一个类似于人类肺的外置肺。国内也有关于昆虫呼吸系统的部分研究,如李怡萍等(2002)、甘雅玲和郭中伟(2005)对昆虫呼吸器官的一般结构进行了研究,郑霞林等(2007, 2008a, 2008b)对条背萤及雷氏黄萤幼虫等水生昆虫的呼吸系统构造和呼吸方式进行了详细研究,但都未涉及肺的结构与功能。本实验在国内外研究的基础上,以哺乳动物的肺为对照,运用电镜和生化技术,对室内饲养的粘虫 *Leucania separata* 幼虫及田间采集的棉大卷叶螟 *Sylepta derogata* 幼虫的肺结构进行详细观察研究,从而进一步证实昆虫肺的功能,以丰富昆虫生理学的研究内容,为开发和研究与呼吸有关的新农药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试虫:室内饲养的粘虫和2008年8月于西北农林科技大学棉花试验田采集的棉大卷叶螟幼虫。

1.1.2 试剂:5%亚甲基蓝,林格氏生理盐水(Ringer's solution),血球稀释液,0.5%亚甲基蓝林格氏溶液,3%戊二醛磷酸缓冲液,解剖固定液,埃利希氏(Ehrlich's)苏木精液。

1.1.3 主要仪器:Nikon 显微镜, Nikon 解剖镜, JEM-2000EX 电子显微镜。

1.2 肺结构及其与心肌连接的观察

在解剖镜下,将粘虫及棉大卷叶螟5龄幼虫置于蜡盘上,腹面朝上,用解剖针将头尾固定,用剪刀从腹线处轻轻剪开体壁,再用昆虫针将体壁固定在蜡盘上,注入解剖固定液或林格氏生理盐水,去除消化道,观察各气门大小、气管的分支多少、直径大小,同时将气管取出,用甘油固定压片在显微镜下进一步观察、拍照,观察肺的位置与结构特点(陈长琨,1996)。

由第6腹足处向棉大卷叶螟5龄幼虫体内注射4%戊二醛0.1 mL(固定组织)后,沿腹面解剖,去除消化道,用埃利希氏苏木精染色后,在解剖镜下观察肺与心肌的连接。

1.3 肺部血流方向的观察

将0.5%蓝色的亚甲基蓝林格氏溶液用小型注射器从棉大卷叶螟第6腹足处注入体内,通过棉大卷叶螟透明的体壁观察到血流方向。

1.4 肺部血液中血细胞数的测定

由于脊椎动物肺部气体交换过程中有血细胞参加运输 O_2 及 CO_2 ,且在缺氧时脾脏会产生大量血细胞,血液中血细胞数会剧增,所以本文对粘虫正常时血细胞与缺氧胁迫下血细胞数分别进行测定(程惊秋,1987;王世贵等,2006)。

缺氧处理:将粘虫5龄幼虫放在水中,溺水30 min后取出,从第6腹足处取出血液,稀释后用血球计数器计数。每处理10头。

以未处理的10头粘虫作为对照,进行血细胞计数。

将上述数据运用 DPS 软件进行分析,比较差异显著性。

1.5 粘虫肺处气管及血细胞超微结构解剖观察

将粘虫5龄幼虫在解剖镜下从腹面解剖,去除消化道,取出第1~7腹节气门处气管,投入4%戊二醛固定液中,作为1号样品,再将第8腹节气门处气管取出投入固定液中,作为2号样品;将粘虫5龄幼虫用水溺淹30 min后取出,用同样方法解剖,取出其肺部气管作为3号样品;将1,2,3号样品低温条件下固定数小时(康莲娣,2003),用1%

钨酸固定组织,经丙酮系列脱水(50%, 70%, 80%, 90%, 100%)之后,用 Epon812 包埋剂浸透包埋,在 35℃, 45℃, 60℃ 下各聚合 1 d,用 LKBV 型超薄切片机切片,再以醋酸钠和柠檬酸铅双重染色,先在相差显微镜下切厚片观察并拍照,然后用 JEM-2000EX 透射电镜进行观察,加速电压 80 kV,并大量拍照。

2 结果与分析

2.1 肺结构及其与心肌的连接特点

解剖镜及显微镜观察表明:棉大卷叶螟及粘虫幼虫第 1~7 腹节(A1~A7)气门较小(图版 I:E),气门气管的分支少而粗大,呈树枝状(图版 I:A, C, E),支气管直径逐级减小,最后形成微气管(tracheole),其末端终止于组织表面(图版 I:A)。而第 8 腹节(A8)气门较第 1~7 节气门大且位置背向偏移(图版 I:E),气门处的气管一部分粗大直接给组织供氧的,但绝大部分气管不断分支,形成短而密集的气管簇(tracheal tufts)(图版 I:B, D),末端悬浮于血腔中,部分气管簇从腹部末端进入臀腔(Tokus),其末端游离于臀腔(图版 I:A),左右两对气管簇以背气管连锁(dorsal tracheal commissure)相连接。该气管簇结构就是这两种鳞翅目昆虫幼虫的肺。

苏木精染色后通过棉大卷叶螟透明体壁可以观察到,肺中的气管簇(银白色)气管与心脏(深紫色)相连接(图版 II:A),支撑纤维与翼肌,在心肌的收缩下,呈有节律地运动。这与哺乳动物的肺气管与心脏收缩交换气体的机理相似。由此可以看出,第 8 腹节及臀腔即是肺的位置,其中的气管簇相当于脊椎动物肺中的肺泡管,用以和血液进行气体交换。

2.2 肺部血流方向

棉大卷叶螟 5 龄幼虫经注射 0.5% 林格氏亚甲基蓝溶液标记血液,通过透明的体壁观察血流方向。发现从幼虫前面各体节注射的亚甲基蓝溶液向后及侧面移动,流经第 8 腹节气管簇和臀腔,几秒钟再流入心脏,由此可见,肺部的气管簇是一个适应与血腔进行气体交换的结构。

2.3 粘虫肺部血液的血细胞计数

将粘虫对照与缺氧处理的血液分别进行血细胞计数,结果显示:对照试虫血细胞数目约为 $36\ 736 \pm 1\ 959.18(SE)$ 个/mL 血液,而处理试虫血细胞数

约为 $49\ 888 \pm 2\ 588.92(SE)$ 个/mL 血液,比对照血细胞数目增加 36%。经 t 检验差异显著($P = 0.05$)。这个结果说明,缺氧胁迫下大量的血细胞会聚集在第 8 腹节气管簇处,进行气体交换以弥补缺氧症。这与存在肺循环的动物机体内,缺氧条件下脾脏组织会释放出大量的血细胞来缓解缺氧症相一致,说明该部位发挥了肺的功能。

2.4 粘虫肺部气管的超微结构特点

电镜观察气管的纵切面见图版 II(C),由图可见,气管是由表皮质内膜(cuticular intima)、管壁细胞层(epichelium)及底膜(basal lamina)构成。表皮质内膜由上表皮(epicuticle)及内表皮构成(endocuticle)。螺旋丝(taenidium)是表皮内膜加厚形成的,其大小随气管直径而变化。在螺旋丝的两边有直径约 10 nm 缠结在一起的细管(tangled tubules)形成的垫状物,在非常大的气管中,螺旋丝处的内表皮可形成叶状突起,而在小的气管中几乎不存在。螺旋丝间的表皮厚度(cuticle thickness)随气管的直径而变化,一般管腔直径越大内膜越厚。

微气管的结构与气管相似,也是由表皮质内膜构成,同样存在螺旋丝,与气管不同的是它是由单个细胞形成的细胞内结构,而且螺旋丝出现的频率较高,其间距约为 50 nm(图版 II:D),它的突出特点是微气管表皮厚度可以减到最小。

比较粘虫第 7 腹节、第 8 腹节肺部的气管及微气管的表皮厚度,发现肺部气管簇气管的表皮远远薄于第 7 腹节气管,如直径为 18 μm 的一个气管簇气管的表皮厚度仅仅是第 7 腹节直径约为 15 μm 的气管表皮厚度的 20%(图版 III:A, B),甚至气管簇中较大气管的表皮与微气管的表皮相差无几(图版 III:C, D),说明气管簇气管与微气管运输气体的效率应该是相当的。

进一步观察发现,位于螺旋丝两边的细管垫状物广泛存在于大的气管中(图版 II:B, C),这些细管可以弯曲变形,它的存在可以使气管具有伸缩性,有利于气管伸到需氧的组织中,并随组织而不断运动。而在气管簇气管中,这种垫状表皮物更明显,在大气管簇气管中有大量可在螺旋丝间伸展的细管(图版 II:B),有的甚至可以促使管壁细胞的细胞核伸出来。正是因为气管簇气管具有比其他气管更丰富的垫状表皮,才使其能够贴近心脏,靠心脏的收缩和舒张牵动其伸展和收缩而不断运动,以此来增加与血腔接触的有效表面积。

2.5 粘虫肺部血细胞结构及输氧机制

根据气管簇气管与心脏相连并且存在血液循环, 推测可能会有血细胞的参与气体交换。气管簇处气管经染色后, 在光镜及电镜下均能看到各种血细胞聚集(图版IV: A, B), 而在一般气管中未见血细胞存在。由此认为, 此处的血细胞是通过在第8腹节气管簇及胸腔间瞬间转移而输送氧。

将对照及缺氧处理后的气管簇处血细胞的形态观察表明: 对照情况下, 气管簇处的血细胞膜表面凹凸不平, 并伸出许多伪足(图版IV: B), 高尔基体(Gogi complexes)内含物丰富, 由许多扁平的小囊组成, 分泌小泡(secretory vacuole)中有细管结构(图版IV: E); 而在缺氧处理下, 血细胞显著变形, 表面圆滑, 没有凸出部分(图版IV: C, D), 高尔基体变形, 内含物减少, 只有少量扁平囊泡, 分泌小泡中无细管(图版IV: F), 并且质膜平直, 紧贴在气管簇处的气管底膜上(图版IV: D), 从而增加了血细胞与管壁的接触面, 有利于它们之间的气体交换。由此说明该处具有肺功能。

3 讨论

由以上研究结果可以看出, 粘虫和棉大卷叶螟幼虫腹部第8腹节气管簇气管确实具有肺的结构特点及功能, 依据包括: (1) 该处气管的形态及结构特点适应于气体交换。气管呈十分丰富的灌木丛状, 悬浮于胸腔中, 且与心脏相接连而不断运动, 并不直接给组织供氧, 这与肺形态极其相似。(2) 超微结构研究表明, 气管簇气管有很薄的管壁、有适合收缩运动的丰富的缠结在一起的细管形成的垫状表皮结构, 有利于气体的充分交换, 这与肺泡管十分相似。(3) 通过标记的亚甲基蓝在体内的流动方向可以看到, 血液经过肺部气管簇及胸腔而进入心脏, 说明在此处与循环系统相联系, 正如肺动脉血进入肺后变成静脉血而流回心室一样。(4) 研究表明该处存在大量的血细胞, 且在缺氧情况下血细胞数目剧增, 通过变形使质膜平直, 尽可能大地与气管簇气管贴靠, 气管壁十分薄, 这些都保证了血细胞与气管的接触面最大, 且通透性极强, 正如肺泡管与毛细血管那样紧贴而有利于气体的交换。另外, 也发现将活的粘虫幼虫浸浴在固定液中1个月后, 解剖发现其他各节气门处气管均已由新鲜的银白色氧化成暗灰色, 而第8腹节的气管簇和胸腔的气管却仍很新鲜, 说明该处氧供应充足, 具有活

力。因此可以认为: 第8腹节气管簇是一个具有适应血细胞进行气体交换的肺。

这一结果与Locke(1998)的研究完全一致, 再次证实了昆虫存在肺的新理论。另外Westneat等(2003)通过同步X-射线成像系统仅发现昆虫的头部到胸部的气管收缩而促进气体交换, 就认为昆虫具有类似于人肺的呼吸机制。Flynn和Bush(2008)研究发现水生昆虫的气泡呼吸中的气体交换, 表明该方式也是一个类似于人类肺的外置肺。这些研究仅是通过呼吸运动和氧交换与肺相似, 就可称之为肺, 相比之下本研究的昆虫肺功能更加完善。在Locke研究的基础上, 本实验进一步研究表明, 肺结构在鳞翅目幼虫中普遍存在, 而鳞翅目又是昆虫纲中进化程度较高的目(袁锋等, 2006), 而肺本身也是存在于较高等的脊椎动物中(陈守良, 1996), 所以称这个气管簇为肺是具有合理性的。

另外, 通过对昆虫肺功能的研究认为, 第8腹节的气管簇结构上具有肺特点, 适合气体交换, 与高等动物的肺机理完全相似, 但仍有其特殊性。如昆虫体内气管十分丰富, 缺氧处理情况下, 血细胞只聚集在腹部第8腹节气门处, 而不聚集在其他部位, 是由于第8腹节气管簇具有肺功能, 血细胞在缺氧情况下, 需要从肺中获得并输送氧气。其次, 在没有认识到肺存在之前, 昆虫体内的 O_2 进入和 CO_2 的排出主要是靠扩散作用和换气运动来完成, 说明昆虫的肺也只是在呼吸中起辅助作用, 特别是在昆虫缺氧时, 功能才能充分发挥, 这正如水生昆虫在进化中形成了不同的呼吸方式, 如体壁呼吸、气管鳃呼吸、气管呼吸、气盾呼吸、气泡呼吸(郑霞林等, 2008a)。既然已证明有肺存在, 并且有血细胞及血液循环参与气体交换, 但包括鳞翅目幼虫在内的绝大多数昆虫血液中并不像高等动物那样含有血红蛋白, 因此用于运输氧和二氧化碳的血细胞及其运输机制又是一个值得探讨的问题, 还需继续深入研究。

参 考 文 献 (References)

- Chen CK, 1996. Experiment of Insect Physiology and Biochemistry. China Agriculture Press, Beijing. [陈长琨, 1996. 昆虫生理生化实验. 北京: 农业出版社]
- Chen SL, 1996. Physiology of Animals. 2nd ed. Peking University Press, Beijing. [陈守良, 1996. 动物生理学(第2版). 北京: 北京大学出版社]
- Cheng JQ, 1987. The methods of observation and counting of the insect hemocytes. *Chinese Bulletin of Entomology*, 21(5): 297-299.

- [程惊秋, 1987. 昆虫血细胞的观察和记数方法. 昆虫知识, 21 (5): 297 – 299]
- Flynn MR, Bush JWM, 2008. Underwater breathing: the mechanics of plastron respiration. *Journal of Fluid Mechanics*, 608: 275 – 296.
- Gan YL, Guo ZW, 2005. Ultrastructures of tracheae systems of some species of insects. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 24 (4): 425. [甘雅玲, 郭中伟, 2005. 几种昆虫气管系统的扫描电镜观察. 电子显微学报, 24(4): 425]
- Gillott C, 1995. Entomology. 2nd ed. Plenum Press, New York.
- Hetz SK, Psota E, Wasserthal LT, 1999. Roles of aorta, ostia and tracheae in heartbeat and respiratory gas exchange in pupae of *Troides rhadamantus* Staudinger 1888 and *Ornithoptera priamus* L. (Lepidoptera: Papilionidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 28: 131 – 144.
- Kang LD, 2003. Biological Electron Microscopy Technique. University of Science and Technology of China Press, Hefei. [康莲娣, 2003. 生物电子显微技术. 合肥: 中国科学技术大学出版社]
- Li YP, Liu HX, Yuan XQ, 2002. The ultrastructure of the tracheal system in insect. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 11 (1): 57 – 60. [李怡萍, 刘惠霞, 袁向群, 2002. 昆虫气管系统的超微结构. 西北农业学报, 11(1): 57 – 60]
- Locke M, 1998. Caterpillars have evolved lungs for hemocyte gas exchange. *Journal of Insect Physiology*, 44(1): 1 – 20.
- Miller PL, 1974. Respiration-aerial gas transport. In: Rockstein M ed. *The Physiology of Insecta*. 2nd ed. Vol. VI. Academic Press, New York.
- Wang SG, Ye GY, Hu C, 2006. The impacts of transgenic cry1Ab rice on the hemocytes of *Chilo suppressalis* larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 49(2): 200 – 205. [王世贵, 叶恭银, 胡萃, 2006. 转 cry1Ab 基因水稻对二化螟幼虫血细胞的影响. 昆虫学报, 49 (2): 200 – 205]
- Wang YC, 2004. *Insect Physiology*. China Agriculture Press, Beijing.
- [王荫长, 2004. 昆虫生理学. 北京: 中国农业出版社]
- Wasserthal LT, 1996. Interaction of circulation and tracheal ventilation in holometabolous insects. *Advance in Insect Physiology*, 26: 298 – 351.
- Westneat MW, Betz O, Blob RW, Fezzaa K, Cooper WJ, Lee WK, 2003. Tracheal respiration in insects visualized with synchrotron X-ray imaging. *Science*, 299: 558 – 560.
- Wigglesworth VB, 1972. *The Principles of Insect Physiology*. 7th ed. Chapman and Hall Press, London.
- Wigglesworth VB, 1984. *Insect Physiology*. 8th ed. Chapman and Hall Press, London.
- Wigglesworth VB, 1990. The direct transport of oxygen in insects by large tracheae. *Tissue and Cell*, 22: 239 – 243.
- Yuan F *et al.*, 2006. *Taxonomy of Hexapoda*. 2nd ed. China Agriculture Press, Beijing. [袁锋等, 2006. 昆虫分类学(第2版). 北京: 中国农业出版社]
- Zheng XL, Lu C, Lei CL, 2008a. Modes of respiration in aquatic insects. *Bulletin of Biology*, 43 (3): 5 – 8. [郑霞林, 鲁冲, 雷朝亮, 2008a. 水生昆虫的呼吸方式. 生物学通报, 43 (3): 5 – 8]
- Zheng XL, Yuan HH, Wang YY, Fu XH, Lei CL, 2008b. Respiratory system and respiratory behaviors of *Luciola leii* larvae. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45 (3): 445 – 448. [郑霞林, 袁洪海, 王余勇, 付新华, 雷朝亮, 2008b. 雷氏黄萤幼虫呼吸系统和呼吸行为. 昆虫知识, 45 (3): 445 – 448]
- Zheng XL, Zhang Y, Fu XH, Lei CL, 2007. Observation and comparison of the structure of respiratory system during different instars of *Luciola substriata* (Coleoptera: Lampyridae) larva. *Acta Entomologica Sinica*, 50 (6): 644 – 648. [郑霞林, 张应, 付新华, 雷朝亮, 2007. 条背萤幼虫不同发育阶段呼吸系统构造的观察和比较. 昆虫学报, 50 (6): 644 – 648]

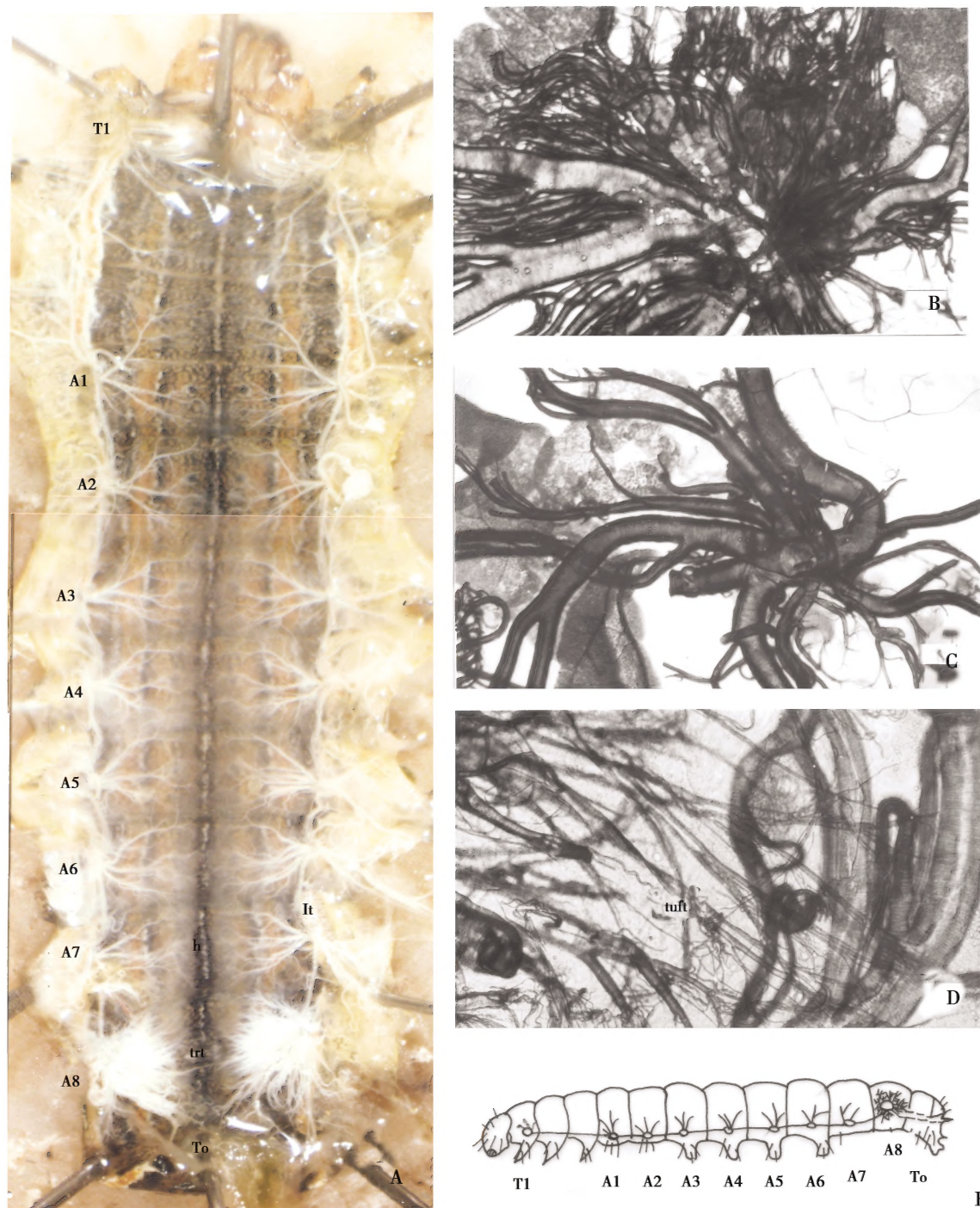
(责任编辑: 赵利辉)

李怡萍等：粘虫和棉大卷叶螟幼虫体内肺结构的存在与功能验证

图版 I

LI Yi-Ping *et al.*: Existence of lungs in caterpillars of *Leucania separata* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Sylepta derogata* (Lepidoptera: Pyralidae) and confirmation of their functions

Plate I

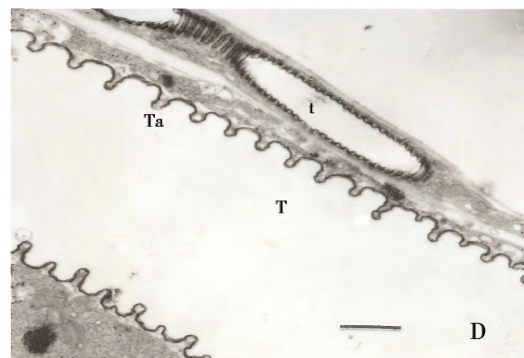
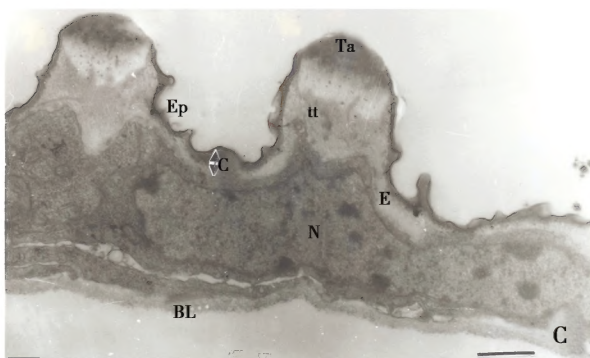
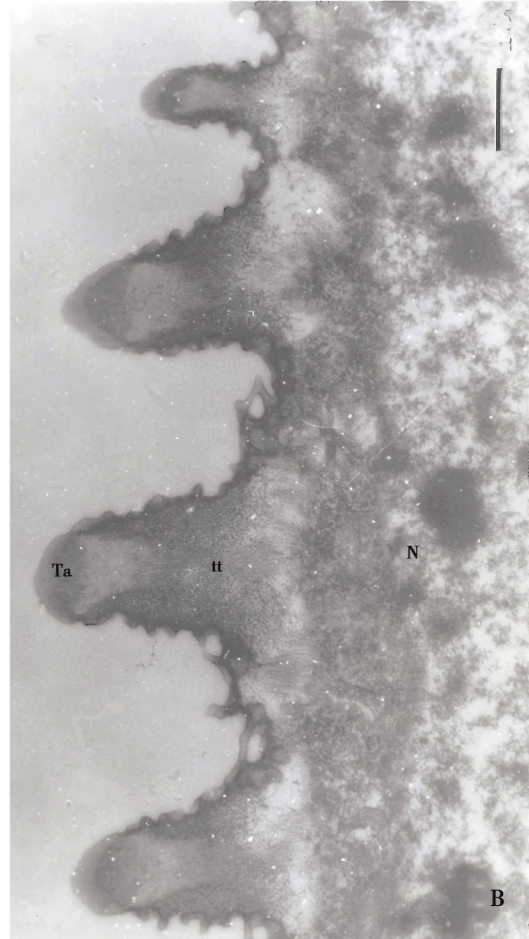


A – D: 粘虫肺的结构和气管系统 The structure of lungs and the tracheal system in *L. separata*. A: 粘虫肺的位置及其气管系统解剖特征 The location and anatomical character of lungs and the tracheal system under stereoscope; B: 第8腹节气管即肺呈灌木丛状 The tracheae of 8th abdominal segment named lung is shrubby-like under microscope; C: 第7腹节气管呈树枝状 The tracheae of 7th abdominal segment is tree-like under microscope; D: 肺气管形成的气管簇 The tracheae of tufts from lungs under microscope; E: 肺的结构和气管系统示意图 The diagram of the structure of lungs and the tracheal system; T1: 前胸气门 Thoracic spiracle; A1–A8: 腹部1~8节气门 The 1st–8th spiracles of abdomen; h: 心脏 Heart; trt: 背部气管连锁 Transverse dorsal trachea; It: 侧气管 Lateral trachea; To: 臀腔 Tokus; tuft: 气管簇 Tracheal tufts.

李怡萍等：粘虫和棉大卷叶螟幼虫体内肺结构的存在与功能验证

图版 II

LI Yi-Ping *et al.*: Existence of lungs in caterpillars of *Leucania separata* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Sylepta derogata* (Lepidoptera: Pyralidae) and confirmation of their functions
Plate II



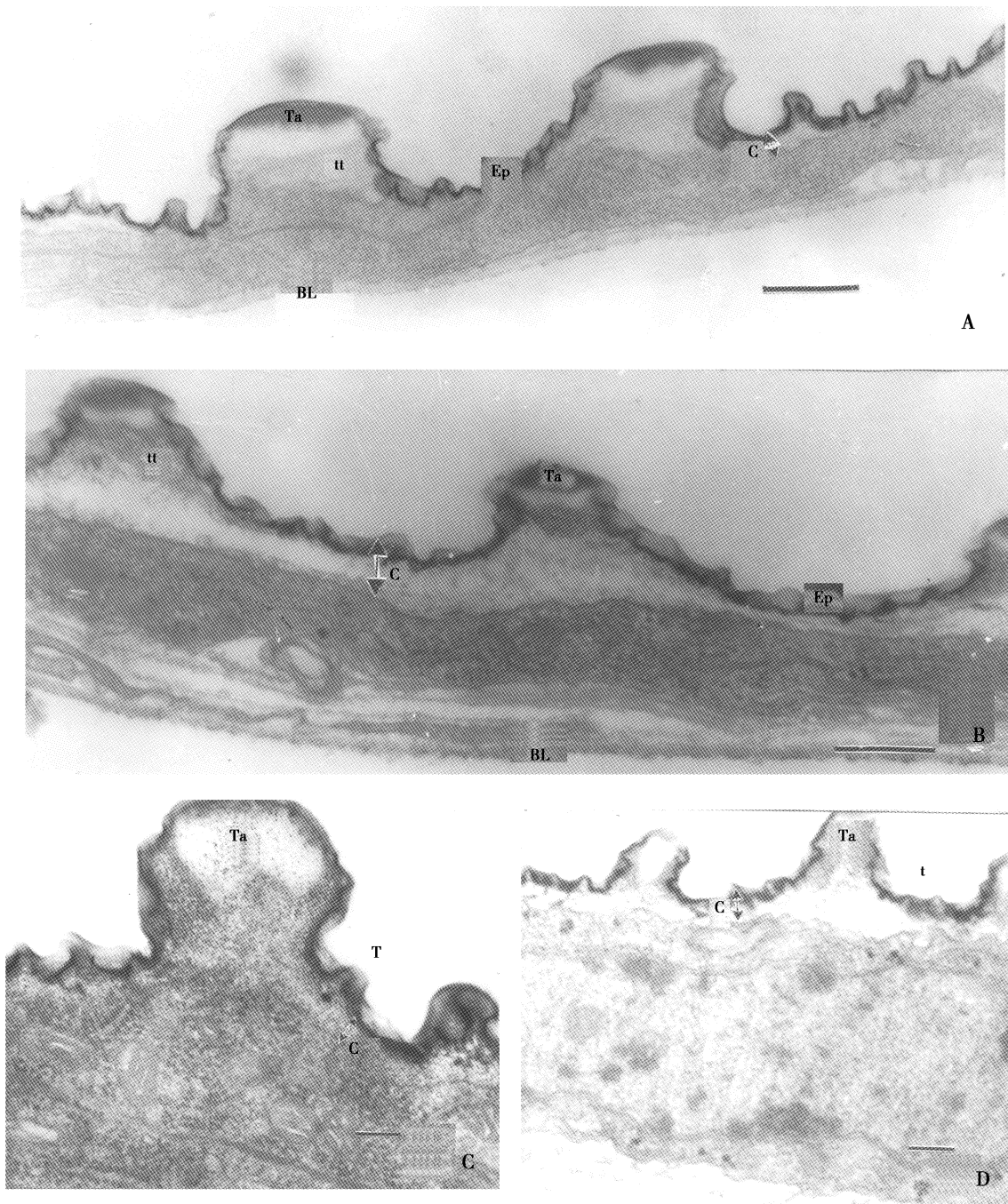
A: 棉大卷叶螟肺结构, 用苏木精染色后可以清楚地看到肺中的气管簇气管与心肌连接 The structure of lungs in *S. derogata* by stereoscope, the terminal branches of *S. derogata* stained with Ehrlich's hematoxylin are obviously observed to attach to the heart muscles; A7-A8: 第7和第8腹气门 The 7th-8th spiracles of abdomen; h: 心脏 Heart; m: 心肌 Heart muscle; T: 臀腔 Tokus; B: 粘虫气管簇气管充满较多的垫状细管 The tracheal tuft of *L. separata* have masses of tangled tubules, bar = 1 μm ; C: 粘虫气管壁的结构 The structure of trachea of *Leucania separata*, bar = 1 μm ; D: 粘虫气管与微气管的结构差异, 微气管表皮厚度较小, 螺旋丝出现的频率较高 The structural difference between trachea and tracheole of *L. separata*. The tracheole has thinner cuticle and higher frequency of small taenidia than that of the trachea, bar = 1 μm . Ta: 螺旋丝 Taenidium; Ep: 上表皮 Epicuticle; E: 内表皮 Endocuticle; C \longleftrightarrow : 表皮厚度 Cuticle thickness; tt: 缠结一起的细管垫状物 Tangled tubules; BL: 底膜 Basal lamina; N: 细胞核 Nucleus; T: 气管 Trachea; t: 微气管 Tracheole.

李怡萍等：粘虫和棉大卷叶螟幼虫体内肺结构的存在与功能验证

图版 III

LI Yi-Ping *et al.*: Existence of lungs in caterpillars of *Leucania separata* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Sylepta derogata* (Lepidoptera: Pyralidae) and confirmation of their functions

Plate III

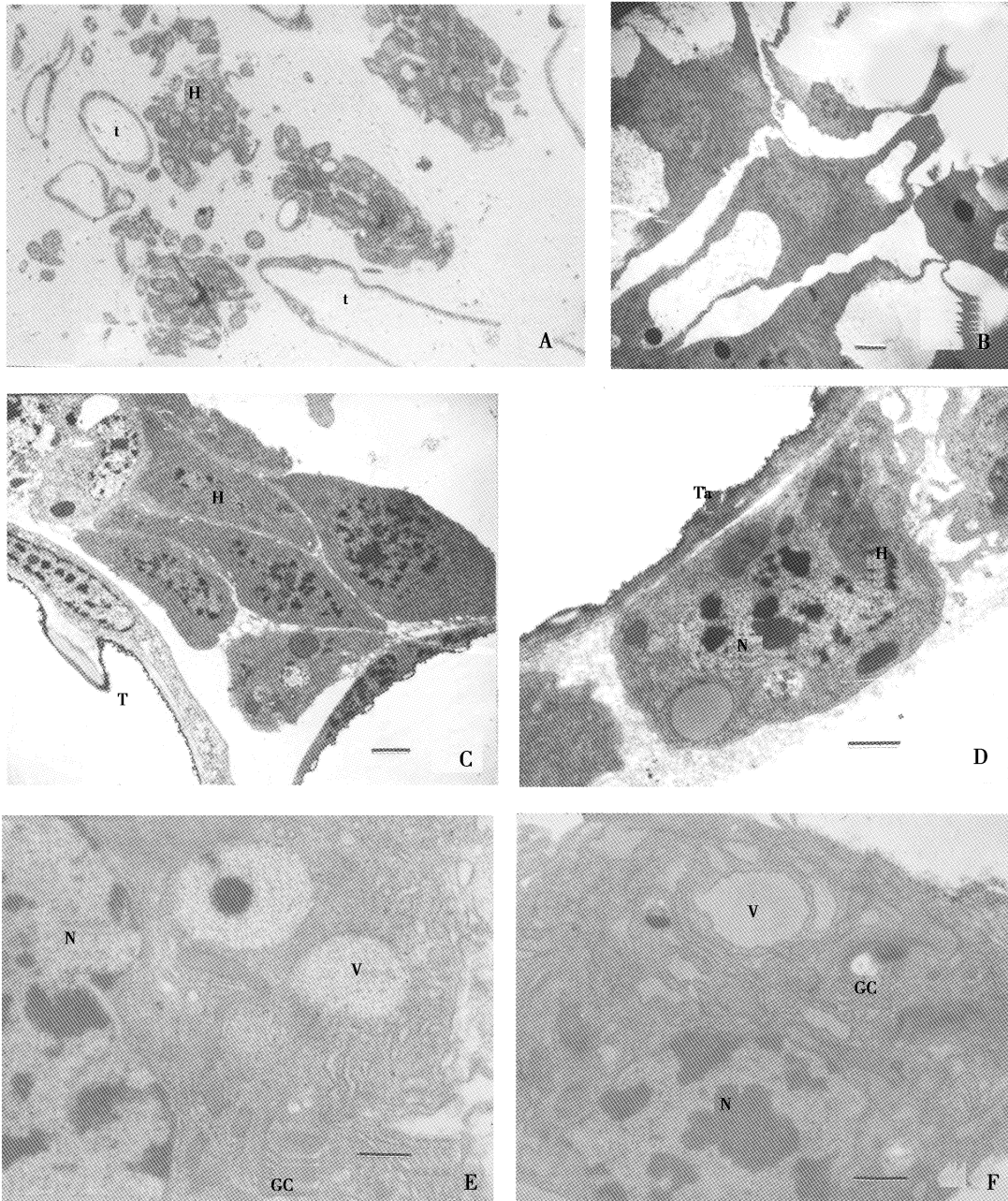


A – D: 粘虫 *Leucania separata*. A: 管腔直径约为 18 μm 的第 8 腹节气管簇气管有薄的表皮 A large trachea of 18 μm diameter from the tuft of 8th abdominal segment has thin cuticle, bar = 1 μm ; B: 管腔直径约为 15 μm 的第 7 腹节气管, 与 A 中的气管簇气管相比有较厚的表皮 A trachea of 15 μm diameter from 7th abdominal segment, similar to the trachea from the tuft in A, has thick cuticle, bar = 1 μm ; C: 气管簇气管 The trachea of tuft, bar = 200 nm; D: 微气管 The tracheole, bar = 200 nm; C 气管簇气管与 D 微气管的表皮厚度相差不大 The trachea of tuft of C has cuticle a little thicker than that of tracheole in D. Ta: 螺旋丝 Taenidium; Ep: 上表皮 Epicuticle; C \longleftrightarrow : 表皮厚度 Cuticle thickness; tt: 缠结在一起的垫状细管物 Tangled tubules; BL: 底膜 Basal lamina; T: 气管簇气管 Trachea of tuft; t: 微气管 Tracheole.

李怡萍等：粘虫和棉大卷叶螟幼虫体内肺结构的存在与功能验证

图版IV

LI Yi-Ping *et al.*: Existence of lungs in caterpillars of *Leucania separata* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Sylepta derogata* (Lepidoptera: Pyralidae) and confirmation of their functions
Plate IV



A – F: 粘虫 *Leucania separata*. A: 对照情况下, 光镜下气管簇处各种各样的血细胞聚集团 The various hemocytes gathering the tracheal tufts in check condition under microscope; B: 对照情况下, 各种各样血细胞表面凹凸不平, 与图 C 形成鲜明对比 The membranes of the check hemocytes are irregular or angular outlines when compared with C, bar = 2 μm ; C (bar = 2 μm), D (bar = 1 μm): 缺氧情况下, 血细胞聚集, 表面圆滑, 血细胞开始靠近气管壁, 血细胞膜拉平, 增加了接触面 The membranes of the anoxic hemocytes gathering the tracheal tufts have round outlines which can enlarge the area when they are close to the tracheal tufts; E: 对照情况下的粒血细胞分泌小泡有内含物, 高尔基体发达, 与 F 对比 Gogi complexes of a well-developed check hemocytes and have numerous flattened saccules, and their storage vacuoles have more inclusions when compared with F, bar = 500 nm; F: 缺氧情况下的粒血细胞分泌小泡无内含物, 高尔基体不发达 Gogi complexes of anoxic hemocytes have few small flat saccules and their storage vacuoles contain less inclusions, bar = 500 nm. T: 气管 Trachea; H: 血细胞 Hemocytes; N: 细胞核 Nucleus; V: 分泌小泡 Secretory vacuoles; GC: 高尔基体 Gogi complexes; Ta: 螺旋丝 Taenidium; t: 气管簇气管 Trachea of tuft.